DOI:10.11931/guihaia.gxzw201808011

三种常绿阔叶树光系统 II 在低温胁迫下的光抑制及恢复

程冬梅*，张志勇，周赛霞，彭焱松，张兆祥
（江西省植物迁地保护与利用重点实验室，江西省、中国科学院庐山植物园，
江西 九江 332900）

摘要：冬季低温胁迫对亚热带常绿阔叶树光合活性的主要影响之一体现在光合机构的低温光抑制。为了阐明冬季低温胁迫下常绿阔叶树光系统 II 的光抑制程度及光保护机制，该试验研究了冬季自然低温胁迫（零下低温冻害和零上低温寒害）对红叶石楠、枇杷和猴樟三种亚热带常绿阔叶树光合机构光系统 II(PSII)光抑制的影响以及春季气温回暖后的恢复情况。结果表明，冻害和寒害低温胁迫使猴樟的 PSII 活性显著降低，PSII 受到较严重的光抑制，低温胁迫解除后 PSII 活性未能完全恢复。红叶石楠 PSII 活性下降程度和光抑制程度最轻，春季 PSII 活性显著上升，光抑制显著下降。枇杷 PSII 活性和光抑制程度介于猴樟和红叶石楠之间。低温胁迫下红叶石楠的非光化学淬灭(NPQ)接近常温水平；枇杷的 NPQ 略有降低，春季恢复正常；猴樟 NPQ 最低，春季低温解除后仍不能完全恢复。此外，三种常绿阔叶树在冬季低温胁迫和春季恢复时期的 NPQ 与 PSII 的光抑制程度存在显著的负相关关系。综合以上结果分析表明，冬季低温对红叶石楠 PSII 影响不大，对枇杷有一定影响但春季气温回暖后可以及时恢复，对猴樟 PSII 有显著的光抑制且恢复过程较慢。不仅如此，NPQ 对保护常绿阔叶树 PSII 免受冬季低温光抑制有重要的贡献。

关键词：光合作用生理，光系统 II，光抑制，低温胁迫，非光化学淬灭，光保护

Photoinhibition and recovery of photosystem II of three broad-leaved evergreens to low temperature stress

CHENG Dongmei*, ZHANG Zhiyong，ZHOU Saixia,
PENG Yansong, ZHANG Zhaoxiang
（1. *Provincial Key Laboratory of Plant Ex Situ Conservation and Utilization, Lushan Botanical Garden, Jiangxi Province and Chinese Academy of Sciences*, Jiujiang 332900, Jiangxi, China）

基金项目：江西省重点研发计划项目(20161BBF60054)；中国科学院重点部署项目(KFJ-3W-N01-143)；江西省科研基础条件和能力建设项目(2017ZDD01002) [Supported by Key Research and Development Program of Jiangxi (20161BBF60054); Key Program of Chinese Academy of Sciences (KFJ-3W-N01-143); Scientific infrastructure and capacity building of Jiangxi province (2017ZDD01002)] 。

作者简介：程冬梅(1985 -)，女，青海省民和县，博士，助理研究员，研究方向为光合作用调控，（E-mail）chengdongmey@163.com。

***通信作者：**程冬梅，博士，助理研究员，研究方向为光合作用调控,（E-mail）chengdongmey@163.com。

Abstract: The limits on photosynthesis of subtropical evergreen trees imposed by winter low

temperature are mainly from photoinhibition of photosynthetic apparatus. To understand the extent of photoinhibition of photosystem II (PSII) and the mechanism of photoprotection of evergreen trees under winter low temperature stress, PSII photoinhibition and recovery were studied in three broad-leaved evergreen tree species *Photinia* × *fraseri*，*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl, and *Cinnamomum bodinieri* Levl. Results indicated that PSII of *Cinnamomum bodinieri* was severely depressed and suffered photoinhibition under freezing and chilling temperature, and function of PSII was unable to fully recover at spring normal temperature. *Photinia* × *fraseri* showed the most unaffected PSII function and the least photoinhibition, whereas the situation in *Eriobotrya japonica* was in the intermediate. Accordingly, *Photinia* × *fraseri* maintained the level of non-photochemical quenching (NPQ) almost as high as at normal temperature, and NPQ of *Eriobotrya japonica* showed a little decrease but recovered at normal temperature condition. *Cinnamomum bodinieri* displayed the lowest NPQ under low temperature and was unable to totally recover. Furthermore, all the three tree species showed a strong negative relationship between NPQ and PSII photoinhibition, which was indicated by the maximum potential photochemical efficiency of PSII (Fv/Fm) and the quantum yield of non-regulated energy dissipation of PSII (Y(NO)). Overall, the results demonstrate that *Photinia* × *fraseri* is more resistant to low temperature stress than *Eriobotrya japonica* and *Cinnamomum bodinieri* in terms of PSII. NPQ plays an important role for protecting PSII of these trees from photoinhibition under low temperature.

Key words: physiology of photosynthesis, PSII, photoinhibition, low temperature stress, NPQ, photoprotection

低温是限制植物地理分布和生理活动的重要环境因素(Sharma et al, 2005; Ensminger et al, 2012)。低温冻害和寒害不仅造成植物细胞水分结晶、渗透压改变、膜系统受损，还导致酶活性降低、代谢变缓、光合机构受氧化胁迫活性降低(Graham and Patterson, 1982; Öquist and Hüner, 2003; 张子山等，2013)。叶绿体类囊体膜上的光合机构光系统 II(PSII)对环境变化最为敏感(Aro et al, 1993; Tyystjärvi, 2013)，当植物在低温等环境胁迫条件下吸收和传递过剩光能，产生的大量活性氧使 PSII 反应中心 D1 蛋白氧化损伤速率大于修复速率，导致光化学效率降低，引起光抑制现象(Vass and Cser, 2009; Sonoike, 2011)。非光化学淬灭(NPQ)是植物应对氧化胁迫的重要防御机制，捕光天线复合物将吸收的过剩光能以热能耗散，避免活性氧的积累(Takahashi and Murata, 2008; Murchie and Niyogi, 2011; Pinnola and Bassi, 2018)。

不同于落叶树，常绿树在冬季仍保留叶片进行光合作用，低温使 CO_2 固定相关酶活性降低，NADPH 还原力积累，导致叶绿体内产生大量活性氧(Sharma et al, 2005; Verhoeven, 2013)。因此，大部分松柏类常绿树在冬季 PSII 活性显著降低，NPQ 受调控显著上升(Bigras et al, 2001; Derks et al, 2015)。这种 PSII 冬季持续性光抑制现象是植物应对冬季低温的一种重要的保护机制(Öquist and Hüner 2003; Míguez et al, 2017)。近年来研究报道，零上低温对热带、亚热带常绿阔叶树 PSII 发生显著的光抑制(胡文海等，2005; Huang et al, 2010; Li et al, 2018)。但目前对红叶石楠(*Photinia* × *fraseri*)、枇杷(*Eriobotrya japonica*)、猴樟(*Cinnamomum bodinieri*)等亚热带常绿阔叶树在零下低温冻害后 PSII 的光抑制程度以及 NPQ 在光保护方面的作用报道仍比较少见。此次试验主要研究了红叶石楠、枇杷、猴樟三种常绿阔叶树在低温冻害和寒害胁迫下 PSII 的光抑制及活性恢复，并对 NPQ 在保护 PSII 免受光抑制中的作用进行了探讨。

1. 材料与方法

1.1 植物材料

以江西省中国科学院庐山植物园分园鄱阳湖植物园(116°5.2′ E，29°40.5′ N，海拔 25 m)种植的八年生成熟的红叶石楠(*Photinia × fraseri*)、枇杷(*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl 和猴樟(*Cinnamomum bodinieri* Levl)为研究材料，分别于 2018 年冬春季节低温胁迫和恢复期间上午 09:00 至 11:00 取向阳面同一位置成熟枝叶，暗适应 30 min 后立即用 LI-COR 6800 便携式光合仪对叶片进行叶绿素荧光测定。每种材料至少进行 3 个叶片重复观测。

1.2 温度条件

2018 年 1 月 27 日至 30 日鄱阳湖植物园遭受连续降雪和冻雨导致的零下低温冻害；2 月 8 日气温回升至零上低温寒害；4 月 9 日气温基本恢复正常，可作为低温胁迫解除和光合活性恢复的对照条件。分别于 1 月 30、2 月 8 日、4 月 9 日进行实验，三天的日最低气温分别为-5.3、4.5、9.2°C，日平均气温分别为-1.1、7.2、18.5°C。气温数据由植物园气象站观测获得。

1.3 叶绿素荧光检测

暗适应叶片观测最小荧光 Fo 和 10,000 μmol photons·m^{-2}·s^{-1} 饱和脉冲下最大荧光 Fm，并计算 PSII 潜在最大光化学量子产量 Fv/Fm = (Fm-Fo)/ Fm。然后开启光化光，检测光适应时最小荧光 Fo'、最大荧光 Fm'和稳态荧光 Fs，分别计算 PSII 实际光化学量子产量Φ(II) = (Fm'-Fs)/Fm'；PSII 相对电子传递速率 rETR(II) = 光合有效辐射(PAR)× Φ(II)×0.84×0.5；非光化学淬灭 NPQ = (Fm - Fm')/Fm'；qN = 1 - (Fm'- Fo')/(Fm-Fo)；PSII 非调节性能量耗散量子产量 Y(NO) = Fs/Fm。将叶片在 0、25、50、100、150、300、500、1 000、1 500、2 000 μmol photons·m^{-2} ·s^{-1} 光合有效辐射下保持 90-120 s，测得各叶绿素荧光参数的快速光响应曲线。

1.4 曲线拟合

根据 Jasby 和 Platt 的方程 P = Pm ×tanh (α×PAR/Pm) (Jasby 和 Platt 1976)对 rETR(II)快速光响应曲线进行拟合。其中α为曲线的初始斜率，反映了光能利用效率；Pm 是拟合出来的潜在最大相对电子传递速率；半饱和光强 Ik=Pm/α，反映了样品耐受强光的能力。曲线用最小二乘法通过 Origin 8.5 软件拟合。

1.5 数据分析

实验数据用 Microsoft Excel 2015 软件统计平均值和标准差，用 Origin 8.5 软件作图。

2. 结果与分析

2.1 PSII 的活性变化

图 1 为零下低温冻害(1 月 30 日)、零上低温寒害(2 月 8 日)和恢复(4 月 9 日)时期红叶石楠、枇杷和猴樟 PSII 实际光化学量子产量Φ(II)和 PSII 相对电子传递速率 rETR(II)的光响应曲线，以此来反映低温对 PSII 活性的影响。结果显示，冻害使三种树 PSII 的活性都受到不同程度的下降。红叶石楠冻害后Φ(II)与恢复期接近，rETR(II)保持较高水平，甚至高于恢复时期。枇杷冻害后的Φ(II)和 rETR(II)比红叶石楠略低。猴樟 PSII 受影响最严重，Φ(II)和 rETR(II)最低。零上低温寒害下三种树的 PSII 活性仍维持在冻害时期的水平甚至更低。春季气温回升至 18.5°C 后(4 月 9 日)，红叶石楠和枇杷Φ(II)恢复至正常水平，而猴樟Φ(II)与 rETR(II)不能全部恢复。对 rETR(II)快速光响应曲线进行拟合后，猴樟初始斜率α和最大光合速率 Pm 在低温胁迫时明显低于红叶石楠和枇杷，温度恢复后猴樟最大光合速率 P(m)和耐受强光的能力 Ik 仍然低于红叶石楠和枇杷(表 1)。

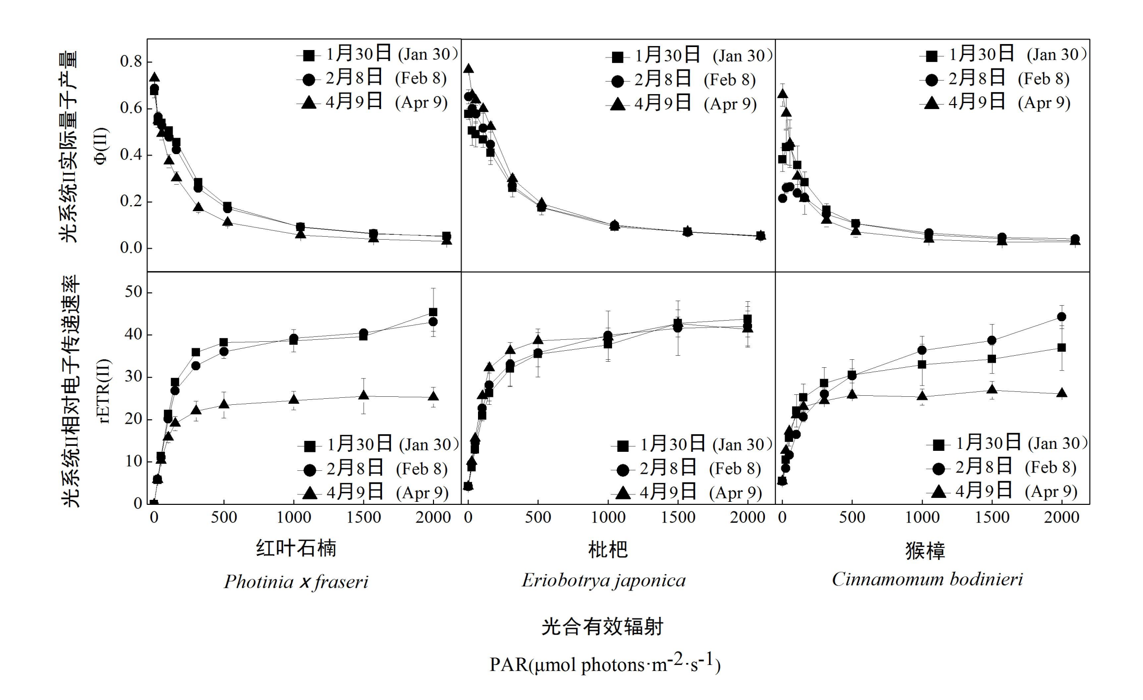


图 1 红叶石楠、枇杷和猴樟在冻害(1 月 30 日)、寒害(2 月 8 日)、春季常温(4 月 9 日)下 PSII 活性变化

Fig. 1 Effects of freezing (Jan 30), chilling (Feb 8) and recovery (Apr 9) temperature on PSII activity of *Photinia* × *fraseri*, *Eriobotrya japonica* and *Cinnamomum bodinieri*

表 1 红叶石楠、枇杷和猴樟快速光响应曲线拟合参数

Table 1 Fitted parameters for rapid light curve from *Photinia* × *fraseri*, *Eriobotrya japonica* and *Cinnamomum bodinieri*

名称 Species	日期 Date	最大相对电子传递速率 Pm	初始斜率 α	半饱和光强 Ik
红叶石楠	1 月 30 日 Jan 30	40.24	0.23	173.23
Photinia × *fraseri*	2 月 8 日 Feb 8	39.31	0.21	187.04
	4 月 9 日 Apr 9	24.19	0.19	125.61
枇杷	1 月 30 日 Jan 30	42.18	0.19	224.24
Eriobotrya japonica	2 月 8 日 Feb 8	41.64	0.22	186.08
	4 月 9 日 Apr 9	42.48	0.28	150.03
猴樟	1 月 30 日 Jan 30	25.06	0.16	154.42
Cinnamomum	2 月 8 日 Feb 8	30.85	0.08	401.54
	4 月 9 日 Apr 9	18.13	0.22	80.86

2.2 PSII 的光抑制及恢复

图 2 显示了低温胁迫及恢复过程中三种树 PSII 光抑制变化。冻害和寒害下红叶石楠维持较高的 Fv/Fm 和较低的 Y(NO)，表明 PSII 仅受到轻微的光抑制，且在温度恢复正常后光

抑制也完全恢复。冻害使枇杷的 Fv/Fm 和 Y(NO)分别低于和高于红叶石楠，寒害下枇杷的 PSII 光抑制有所减轻，气温恢复后 PSII 的光抑制也得到完全恢复。冻害对猴樟的 PSII 产生非常显著的光抑制，Fv/Fm 和 Y(NO)分别达到了最低和最高值，而且光抑制程度随着冻害的解除和冷害的持续而继续加深，直到气温恢复正常后光抑制程度才有部分恢复。

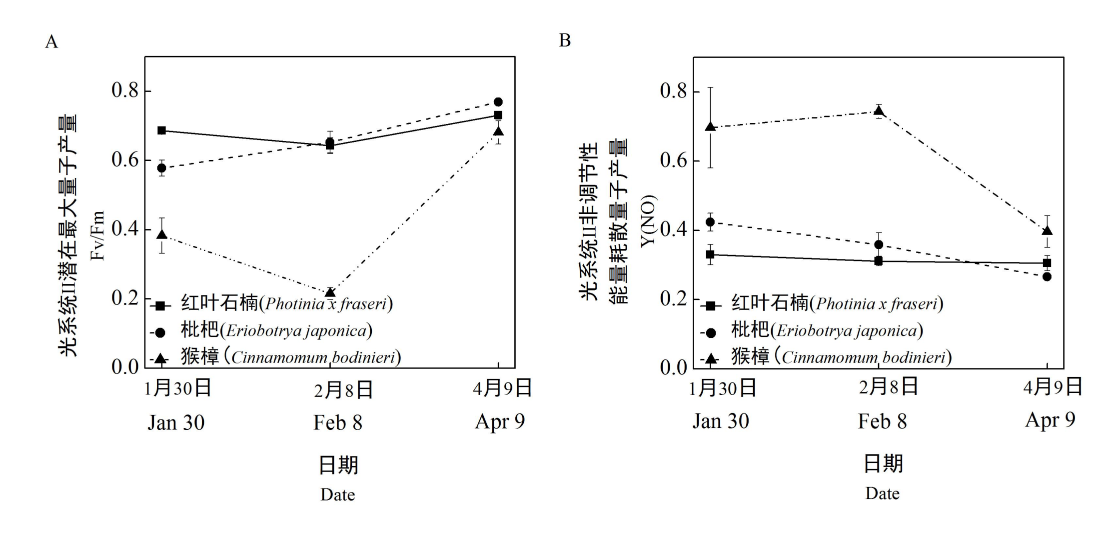


图 2 红叶石楠、枇杷和猴樟在冻害(1 月 30 日)、寒害(2 月 8 日)、春季常温(4 月 9 日)下(A)Fv/Fm 和(B)Y(NO)变化

Fig. 2 Effects of freezing (Jan 30), chilling (Feb 8) and recovery (Apr 9) temperature on (A) Fv/Fm and (B) Y(NO) of *Photinia × fraseri*, *Eriobotrya japonica* and *Cinnamomum bodinieri*

2.3 NPQ 与 PSII 光抑制的关系

非光化学淬灭(NPQ)是植物进行光保护的重要机制，可以通过叶绿素荧光参数 NPQ 和 qN 来反映。图 3 显示了红叶石楠、枇杷和猴樟在零下低温冻害、零上低温寒害和气温恢复时期叶绿素荧光参数 NPQ 和 qN 的光响应曲线变化。结果显示冻害和寒害胁迫下三种树的 NPQ 和 qN 均有不同程度的降低，气温恢复后 NPQ 和 qN 也随之得到不同程度的恢复。相对而言，冻害和寒害低温胁迫对红叶石楠的 NPQ 和 qN 影响较小，枇杷 NPQ 和 qN 低于红叶石楠，猴樟的 NPQ 和 qN 最低。气温恢复后，红叶石楠和枇杷的 NPQ 和 qN 均恢复到较高水平，猴樟的 NPQ 和 qN 仍不能完全恢复。将冻害、寒害、正常温度三种条件下红叶石楠、枇杷和猴樟的 Fv/Fm 与 500 μmol photons·m^{-2}·s^{-1} 光合有效辐射下的 NPQ、Y(NO)进行分析，发现三种树在三种条件下 Y(NO)和 Fv/Fm 均与 NPQ 存在极显著的负相关关系，即 PSII 光抑制程度与非光化学淬灭存在显著负相关(图 4)。

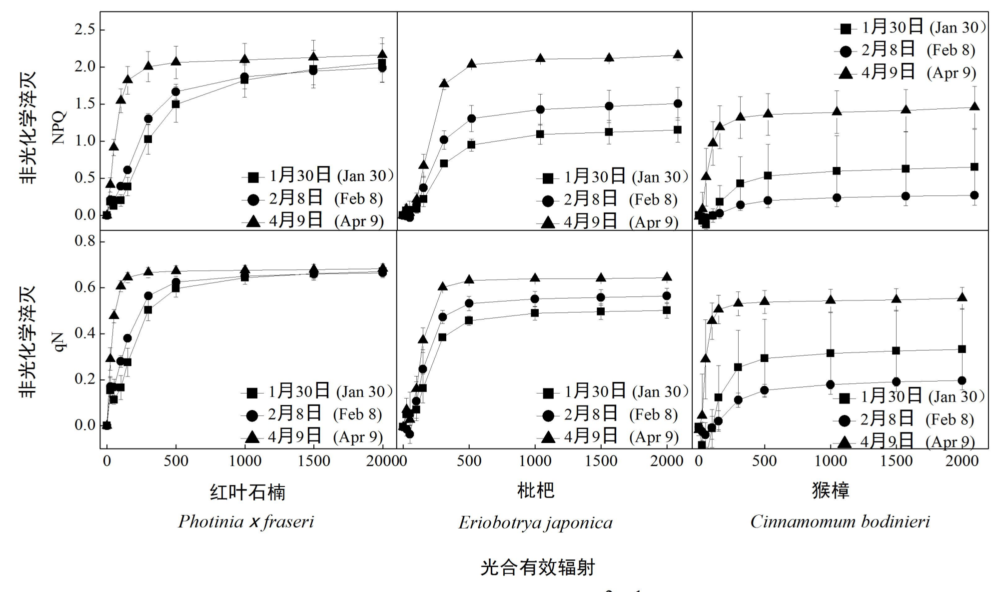


图 3 红叶石楠、枇杷和猴樟在冻害(1 月 30 日)、寒害(2 月 8 日)、春季常温(4 月 9 日)下 NPQ 变化

Fig. 3 The effect of freezing (Jan 30), chilling (Feb 8) and recovery (Apr 9) temperature on NPQ of *Photinia* × *fraseri, Eriobotrya japonica* and *Cinnamomum bodinieri*

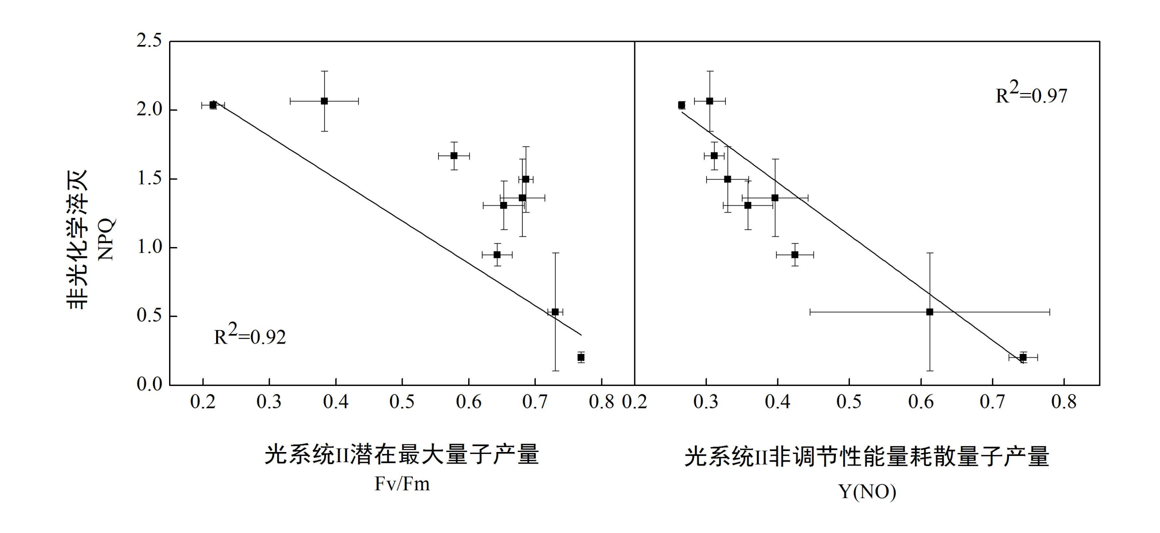


图 4 NPQ 与 Fv/Fm 和 Y(NO)呈显著负相关关系

Fig. 4 The significant negative relationships of NPQ to Fv/Fm and Y(NO)

3. 结论与讨论

冻害和寒害胁迫对越冬的常绿阔叶树的 PSII 产生光抑制，是导致冬季树木光合活性下降的重要原因(Verhoeven, 2013)。低温光照条件下产生的活性氧对光合机构和其他生物大分子造成氧化损伤，不仅使光合作用活性下降，而且导致叶片黄化、褐化、坏死(Sharma et al, 2005)。这项研究对红叶石楠、枇杷、猴樟在冬季冻害和寒害低温胁迫下 PSII 的光抑制和恢复进行了研究，证明冬季低温对三种亚热带常绿阔叶树 PSII 造成的光抑制存在差异。综合而言，低温对红叶石楠 PSII 的影响最小，枇杷次之，猴樟 PSII 受到显著的光抑制且恢复较慢。 三种树的 PSII 光抑制程度与 NPQ 的活性存在负相关。

研究证明，Fv/Fm 和 Y(NO)可以有效反映 PSII 的光抑制程度(Baker, 2008; Huang et al, 2010; Míguez et al, 2015)。此次试验结果显示，三种常绿阔叶树在低温胁迫和恢复时期 PSII 活性越高，Fv/Fm 越高，Y(NO)越低，证实了这两个叶绿素荧光参数可以真实有效地反映 PSII 光抑制的生理状态。红叶石楠在低温胁迫下 PSII 活性未受显著下降，而 rETR(II)在春季气温恢复后却表现出下降(图 1)，原因可能是受恢复时期Φ(II)光响应曲线随着光合有效辐射的增加而迅速下降所影响，因为 rETR(II)的计算结果由光合有效辐射和Φ(II)共同决定。

尽管三种树在低温胁迫下 PSII 活性下降程度不同，但 Fv/Fm 均表现出下降趋势，Y(NO)均有上升趋势，即 PSII 都发生了不同程度的光抑制，这表明三种常绿阔叶树在冬季进行了 PSII 持续性光抑制的保护机制 这个结果证实了 Míguez(2015)越冬常绿植物普遍在气温阈值为 0°C 左右发生 PSII 持续性光抑制的结论。下一步研究低温胁迫对 PSI 光抑制的影响将进一步阐明 PSII 与 PSI 在低温胁迫下的光抑制特性与相互关系。

综上所述，冬季冻害和寒害对红叶石楠、枇杷和猴樟三种亚热带常绿阔叶树 PSII 产生不同程度的光抑制，而且非光化学淬灭的光保护机制对越冬树种 PSII 免受光抑制具有重要的生理学意义。

参考文献：

ARO EM, VIRGIN I, ANDERSSON B, 1993. Photoinhibition of photosystem II. Inactivation, protein damage and turnover[J]. BBA-Bioenergetics, 1143(2): 113-134.

BAKER NR, 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo[J]. Annu Rev Plant Biol, 59(1): 89-113.

BIGRAS FJ, RYYPPO A, LINDSTROM A, et al, 2001. Cold acclimation and deacclimation of shoots and roots of conifer seedlings[M]. Dordrecht: Springer: 57-88.

DERKS A, SCHAVEN K, BRUCE D, 2015. Diverse mechanisms for photoprotection in photosynthesis. Dynamic regulation of photosystem II excitation in response to rapid environmental change[J]. BBA-Bioenergetics, 1847(4-5): 468-485.

ENSMINGER I, BERNINGER F, STREB P, 2012. Response of photosynthesis to low temperature[M]. UK: Cambridge University Press: 272-289.

GRAHAM D, PATTERSON BD, 1982. Responses of plants to low, nonfreezing temperatures: proteins, metabolism, and acclimation[J]. Annu Rev Plant Biol, 33(1): 347-372.

HU WH, XIAO YA, LONG WW, 2005. Effects of night low temperature and sunlight on photoinhibition and photosystem Ⅱ functions in leaves of *Pittosporum tobira* (Thunb.) Ait. and *Ficus microcarpa* L[J]. J Plant Physiol, 41(4): 467-470. [胡文海, 肖宜安, 龙婉婉, 2005. 夜间低温后日间光照对海桐和榕树叶片的光抑制以及光系统 II 功能的影响[J]. 植物生理学通讯, 41(4): 467-470.]

HUANG W, ZHANG SB, CAO KF, 2010. Stimulation of cyclic electron flow during recovery after chilling-induced photoinhibition of PSII[J]. Plant Cell Physiol, 51(11): 1922-1928.

JASBY AD, PLATT T, 1976. Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton[J]. Limnol Oceanogr, 21(4): 540-547.

LI ZZ, LI XM, RUBERT-NASON FK, et al, 2018. Photosynthetic acclimation of an evergreen broadleaved shrub (*Ammopiptanthus mongolicus*) to seasonal climate extremes on the Alxa Plateau, a cold desert ecosystem[J]. Trees, 32(5): 603-614.

MÍGUEZ F, FERNÁNDEZ-MARÍN B, BECERRIL JM, et al, 2015. Activation of photoprotective winter photoinhibition in plants from different environments: a literature compilation and meta-analysis[J]. Physiol Plant, 155(4): 414-423.

MÍGUEZ F, FERNÁNDEZ-MARÍN B, BECERRIL JM, et al, 2017. Diversity of winter photoinhibitory responses: a case study in co-occurring lichens, mosses, herbs and woody plants

from subalpine environments[J]. Physiol Plant, 160(3): 282-296.
MURCHIE EH, NIYOGI KK, 2011. Manipulation of photoprotection to improve plant photosynthesis[J]. Plant Physiol, 155(1): 86-92.
ÖQUIST G, HÚNER NP, 2003. Photosynthesis of overwintering evergreen plants[J]. Annu Rev Plant Biol, 54(1): 329-355.
PINNOLA A, BASSI R, 2018. Molecular mechanisms involved in plant photoprotection[J]. Biochem Soc T, 46(2): 467-482.
SHARMA P, SHARMA N, DESWA R, 2005. The molecular biology of the low-temperature response in plants[J]. Bioessays, 27(10): 1048-1059.
SONOIKE K, 2011. Photoinhibition of photosystem I[J]. Physiol Plant, 142(1): 56-64.
TAKAHASHI S, MURATA N, 2008. How do environmental stresses accelerate photoinhibition[J]? Trends Plant Sci, 13(4): 178-182.
TYYSTJÄRVI E, 2013. Photoinhibition of photosystem II[M]. Cambridge: Academic Press: 243-303.
VASS I, CSER K, 2009. Janus-faced charge recombinations in photosystem II photoinhibition[J]. Trends Plant Sci, 14(4): 200-205.
VERHOEVEN AS, 2013. Sustained energy dissipation in winter evergreens[J]. New Phytol, 201(1): 57-65.
ZHANG ZS, YANG C, GAO HY, 2013. Chilling photoinhibition of photosystem I and its recovery after photoinhibition[J]. J Plant Physiol, 49 (4): 301-308. [张子山，杨程，高辉远，2013. 植物光系统 I 的低温光抑制及恢复[J]. 植物生理学报，49 (4): 301-308.]